

Aus der Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses
Erlangen-Nürnberg
(Vorstand: Prof. Dr. med. F. Scheiffarth)

**Vergleichende Untersuchungen
des Antistreptolysin- und Antistreptokinase-Titers
bei der experimentellen Hyperlipämie**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Ursula Meinel
aus Nürnberg



Dekan: Professor Dr. med. E. Wetterer

Referent: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Januar 1968

Sonderdruck aus „Zeitschrift für Rheumaforschung“

Band 27

Juni 1968

Heft 5/6

Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt

*Aus der Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses
Erlangen-Nürnberg*

(Vorstand: Prof. Dr. F. Scheiffarth)

und der

Staatlichen Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Erlangen

(Direktor: Reg. Med. Dir. Dr. F. Legler)

Vergleichende Untersuchungen des Antistreptolysin- und Antistreptokinase-Titers bei der experimentellen Hyperlipämie

Von F. SCHEIFFARTH, H. GÖTZ, F. LEGLER und U. MEINL *)

Mit 2 Abbildungen in 3 Einzeldarstellungen und 1 Tabelle

(Eingegangen am 23. August 1967)

Neben der Bestimmung des Antistreptolysin-0-Titers wird als weiterer immunbiologischer Nachweis einer abgelaufenen oder noch bestehenden Infektion mit β -hämolytischen Streptokokken der Gruppe A die Antihyaluronidase- wie auch die Antistreptokinase-Reaktion verwendet. Bislang gab man im allgemeinen der Antistreptolysin-Reaktion den Vorzug, da hier eine Standardisierung und folglich eine internationale Vergleichsmöglichkeit bestand. Andererseits sind Fehlergebnisse der Antistreptolysin-Reaktion i. S. biologisch falsch positiver Werte durch unspezifische, infekunabhängige Serumfaktoren bekannt geworden. Nach bisherigen Untersuchungsergebnissen beeinflussen vor allem die Serumlipide den Antistreptolysin-Titer durch eine Streptolysininhibitor-Wirkung. So rufen etwa nicht streptokokkenbedingte Leber- und Nierenerkrankungen, die mit einer Störung im Fettstoffwechsel und so z. B. mit einer Anreicherung von Serumfetten einhergehen, unspezifisch hohe Titer, oft bis zu 5000 ASE/ml und mehr, hervor (6, 7, 20, 24, 37, 38). Dies wird durch experimentelle Untersuchungen bestätigt: nach Entfernung der Serumlipide durch Absorption mit Bentonit sinkt die Titerhöhe ab (27, 34). Andere Autoren (3, 6) befaßten sich mit vergleichenden Untersuchungen der Antistreptokinase- und Antistreptolysin-Reaktion. Ähnlich wie bei der Antistreptolysin-Bestimmung fällt der Antistreptokinase-Test bei β -hämolytischen Streptokokkeninfektionen in 80% der Fälle positiv aus; bei nicht streptokokkenbedingten Erkrankungen erhält man in 70% der Fälle negative Ergebnisse. Während die Antistreptolysin-Reaktion oft nicht charakteristische, mittlere oder extrem hohe Titer

ergibt, finden sich bei der Antistreptokinase-Reaktion meist entweder einwandfrei niedrige oder, im Falle einer Streptokokkeninfektion, deutlich erhöhte Werte, so daß diesen Befunden möglicherweise eine diagnostisch größere Bedeutung zukommt als den Antistreptolysin-Titerwerten. Die Antistreptokinase-Reaktion scheint von unspezifischen Faktoren nicht beeinflusst zu werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit waren systematische, vergleichende Untersuchungen über das Verhalten von Antistreptolysin- und Antistreptokinase-Titer bei tierexperimentell erzeugter Hyperlipämie, einem zuverlässigen Modell zum Nachweis biologisch falsch positiver Antistreptolysin-Reaktionen.

Tiermaterial

Es wurden insgesamt 10 Kaninchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 2000 g in Versuch genommen.

Versuchsanordnung

Nach Blutentnahme für Ausgangswerte wurden jedem Tier 0,5 ml einer 50%igen Lösung eines Netzmittels *) intravenös injiziert. 2 Stunden, 16 Stunden, 40 Stunden sowie 64 Stunden post injectionem erfolgten bei jedem Tier Blutentnahmen. Die zentrifugierten und sorgsam abgeheberten Seren wurden, entsprechend der angeführten Abnahmezeiten, gepoolt und folgenden Analysen unterworfen:

Bestimmung der Serumlipide (Fettstatus: Gesamt-Ester-Fettsäuren, Phosphatide, Gesamt-Cholesterin, Cholesterin-Ester, freies Cholesterin, Neutralfett und Gesamtfett), Bestimmung der Antistreptolysin-Einheiten, Ermittlung des Antistreptokinase-Titers sowie papierelektrophoretische Differenzierung der Serumweißkörper unter besonderer Berücksichtigung der Proteine, Lipo- und Glykoproteide.

Methodik

1. Der *Fettstatus* wurde nach den üblichen Methoden der Laboratoriumsdiagnostik (17) vorgenommen.

2. Antistreptolysin-Reaktion (ASR)

Die Ermittlung des Antistreptolysin-Titers (ASL) bzw. der Antistreptolysin-Einheiten (ASE) / ml Serum geht auf eine im Jahre 1932 von TODD (43, 44) mitgeteilte Methode zurück, die jedoch in der Zwischenzeit zahlreiche Änderungen und Verbesserungen erfahren hat (19, 20, 37, 42). Im vorliegenden wurde die Antistreptolysin-Reaktion in einer Modifikation des KALBAKSchen Verfahrens (19, 20) durchgeführt, die in ihren Grundzügen 1951 beschrieben wurde (37).

Im Laufe der Jahre wurde auch die ursprüngliche Methode von TODD (43, 44) deutlich verbessert, so daß die wesentlichen Arbeitsgänge hier in Kurzfassung wiedergegeben werden sollen:

- a) Inaktivierung des Serums 30 Min. bei 56 °C.
- b) Ansatz einer Serumverdünnung 1:25 mit Veronalpuffer nach MAYER u. Mitarb. (25): 4,8 ml Veronalpuffer und 0,2 ml Serum. Die angesetzte Serumverdünnung wird durch Aufsetzen des Röhrchens auf eine Mischapparatur (z. Z. „Whirlimixer“ von Scientific Industries in England) gleichmäßig durchmischt.
- c) 10 Röhrchen werden aufgestellt und in jedes 1 ml Veronalpufferlösung mit einer Pipettierspritze eingefüllt.
- d) In das 1. Röhrchen wird 1 ml der Serumverdünnung 1:25 zugegeben, dann jeweils 1 ml überpipettiert, der Rest beim 10. Röhrchen wird verworfen.
- e) Zugabe der im Vorversuch ermittelten Gebrauchs-Lysin-Dosis (GLD), aufgefüllt auf jeweils 1 ml pro Röhrchen. Wenn z. B. eine GLD von 0,15 ml pro Röhrchen errechnet wurde, so müssen pro Röhrchen 0,15 ml Streptolysin (SL) und 0,85 ml Veronalpufferlösung oder pro Patientenserum (10 Röhrchen) 1,5 ml SL + 8,5 ml

*) Polymeres p-Isooktylpolyoxyäthylen („Triton“) der Firma Bayer, Leverkusen.

Veronalpufferlösung angesetzt werden. Zugabe der SL-Veronalpufferlösung, 1 ml pro Röhrchen, mittels Pipettierspritze. Reagenzglasgestelle mit den so gefüllten Röhrchen gut durchschütteln.

- f) 2 Stunden Kältebindung im Kühlschrank bei etwa 4 °C.
- g) Nach der Kältebindung werden die Reagenzglasgestelle einige Minuten bei Zimmertemperatur zwecks Anwärmung stehen gelassen und anschließend mit einer 1,5%igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung (Verdünnung mit Veronalpuffer), je 0,5 ml pro Röhrchen, mit einer Pipettierspritze beschickt. Die Hammelblutkörperchenaufschwemmung wird vor Zugabe 1–1½ Stunden bei 37 °C angewärmt.
- h) Reagenzglasgestelle in ein großes Wasserbad mit 37 °C bzw. für mindestens 45 Minuten in einen Brutschrank mit 37 °C stellen. Bei größeren Versuchsansätzen werden die Röhrchen etwa 60 Minuten im Brutschrank belassen.
- i) Ablesung einmal sofort und nach der Entnahme aus dem Brutschrank und ein zweites Mal nach etwa ½ bis 1 Stunde Stehen bei Zimmertemperatur mit Protokollierung der Hämolysegrade zwischen vollkommener und fehlender Hämolyse.
- j) Die Bewertung des Titers erfolgt anhand des Reaktionsausfalles der Reihe mit dem Standardserum bzw. der Reihen in den eigenen Kontrollseren vom letzten Versuchsansatz. Soweit man – wie KÖHLER (23) sagt – auf einen „Hausstandard“ zurückgreifen muß, verwendet man Gammaglobulin, dessen Antistreptolysin-Titer (AST) in mehreren Versuchen bestimmt worden ist und welches in der entsprechenden Verdünnung in Ampullen bei –20 °C für längere Zeit eingefroren wurde.

Vorversuche

Nachdem über mehrere Jahre ausreichende Erfahrungen hinsichtlich der Haltbarkeit des selbst hergestellten, bei –20 °C eingefrorenen Streptolysins gesammelt worden waren, wird die GLD für jede Streptolysin-Charge nur einmal nach der Herstellung geprüft, wonach dann während der ganzen Lagerungszeit dieser Charge auf weitere Vorversuche ohne Nachteile verzichtet werden kann.

Eine frisch hergestellte SL-Charge wird zuerst auf Hämolysestärke mit fallenden Mengen von SL gegen eine 1,5%ige Aufschwemmung gewaschener Hammelblutkörperchen geprüft.

Wenn man dann für den Vorversuch zur Ermittlung der GLD die SL-Menge nimmt, die bei der Prüfung der Hämolysestärke nach ca. 5 Minuten vollkommene Hämolyse aufwies, wird man etwa richtig verfahren. Man verwendet dafür Sera mit bekanntem AST aus früheren Versuchen in der Technik des Hauptversuches. Ergibt die Ablesung der Serumverdünnungsreihe den Beginn der Hämolyse zu weit links (zu viel SL) oder zu weit rechts (zu wenig SL), so wird die GLD verringert bzw. erhöht und ein zweiter Versuchsansatz veranlaßt.

3. Zur Bestimmung des *Antistreptokinase-Titers* sind in der Literatur verschiedene Methoden beschrieben (1, 2, 8, 16, 26). In vorliegender Arbeit wurde der Antistreptokinase-Gehalt mit den handelsüblichen Reagentien der *Behringwerke**) bestimmt, wobei im einzelnen folgende Arbeitsvorschriften eingehalten wurden:

Ein Fläschchen Streptase mit 5000 Einheiten wurde in 5 ml physiologischer NaCl-Lösung aufgelöst; 1 ml dieser Stammlösung enthielt dann 1000 Einheiten (nach CHRISTENSEN) Streptokinase. In 8 Reagenzgläsern wurden, von der Streptokinase-Stammlösung ausgehend, Verdünnungen mit physiologischer NaCl-Lösung hergestellt. Das erste Röhrchen enthielt 1000 Einheiten/ml, das letzte 50 Einheiten/ml. Sodann pipettierte man in 8 im Wasserbad von 37 °C in einem Gestell stehende Flockungsröhrchen jeweils 0,8 ml Citratblut (1 Teil 3,8%ige Na-Citrat-Lösung + 9 Teile Blut), 0,1 ml Streptokinase-Verdünnung des vorhergehenden Ansatzes, bei 50 Einheiten beginnend und nach gutem Mischen 0,1 ml Thrombin-Lösung (10 Einheiten/ml). Die einzelnen Röhrchen enthielten dann 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75 und 100 Einheiten Streptokinase. Jedes Flockungsröhrchen wurde kurz geschüttelt und zurück ins Wasserbad gestellt; dort kam es sofort zur Gerinnung des Blutes. Nach 10 Minuten wurde festgestellt, in welchem Röhrchen die Lysis des Gerinnsels erfolgte, d. h. es wurde die geringste Menge Streptokinase bestimmt, die im Stande

*) Streptase (für diagnostische Zwecke) der *Behringwerke*, Marburg/Lahn.

war, die Hemmstoffe der individuellen Blutprobe zu neutralisieren und diese innerhalb von 10 Minuten zu lösen (9). Der Antistreptokinase-Titer wird in CHRISTENSEN-Einheiten angegeben.

4. Die *Papierelektrophorese* wurde nach den Angaben von GRASSMANN und HANNIG (12, 14, 15, 17, 32) durchgeführt, die verschiedenen Farbreaktionen zur Darstellung der Protein-Fractionen des Serums sowie der Lipoprotein- und Glykoprotein-Anteile der Serumfraktionen erfolgten in herkömmlicher Weise (32).

Ergebnisse

Serumlipide

Nach einmaliger intravenöser Applikation von p-Isooklylpolyoxyäthylen als Netzmittel erfolgte bei den Kaninchen in Relation zu den Werten unbehandelter Tiere ein deutlicher Anstieg der Serumlipide. Die Hyperlipämie nahm in Stunden kontinuierlich zu, um bei vorliegender Versuchsanordnung 16 Stunden post injectionem des Netzmittels ihren wahrscheinlichen Höhepunkt erreicht zu haben; der Fettspiegel nahm, gemessen an den Werten 40 Stunden sowie bei 64 Stunden, allmählich wieder ab, wobei allerdings nach ca. 3 Tagen noch immer deutlich erhöhte Werte vorlagen.

Mit Bezug auf die einzelnen Serumlipide war zunächst festzustellen, daß die in mg% ausgedrückten Werte für sämtliche Lipide zunehmen. Im einzelnen konnten aber deutliche Unterschiede im Ausmaß der Konzentrationserhöhung der Fettkomponenten festgestellt werden: während Neutralfett sowie Gesamtfett bereits nach 2 Stunden einen deutlichen Anstieg erfahren und darüber hinaus eine weitere enorme Zunahme aufweisen und erst, wie beschrieben, nach 64 Stunden wieder weitgehend abfallen, zeigen die Phosphatide und das Gesamt-Cholesterin einen relativ nur geringfügigen Anstieg. Auffällig ist das Verhalten der Phosphatide, welche, nach einem Anstieg etwa um das Dreifache ihrer Normalkonzentration bei 16 Stunden, von da an bis zu 40 Stunden in etwa Niveaugleichheit zeigen; bis zum Ende der Beobachtungszeit, d. h. bis 64 Stunden nach Applikation des Netzmittels, ergibt sich ein erneuter Anstieg auf einen Wert von 647 mg% des gepoolten Serums gegenüber einem Ausgangswert von 122 mg%. Bei Betrachtung der relativen Verhältnisse des Fettstatus wird diese Diskrepanz, d. h. das nahezu spiegelbildliche Verhalten der Phosphatide zu den Neutralfetten noch deutlicher. Auch mit Bezug auf das Cholesterin und zwar auf das Gesamt-Cholesterin, freie Cho-

Tab. 1. Verhalten des Antistreptolysin- und Antistreptokinase-Titers im Vergleich zum Gesamtfett nach Erzeugung einer Hyperlipämie bei Kaninchen durch i.v. Gabe eines Netzmittels

	Antistreptolysin-Titer (ASE/ml)	Gesamtfett (mg %)	Antistreptokinase-Titer Christ.-Einh./ml)
Ausgangswert	40	324	300
I. Kontr. (2 Std.)	1800	786	200
II. Kontr. (16 Std.)	4800	1847	100
III. Kontr. (40 Std.)	3200	1535	100
IV. Kontr. (64 Std.)	2400	856	200

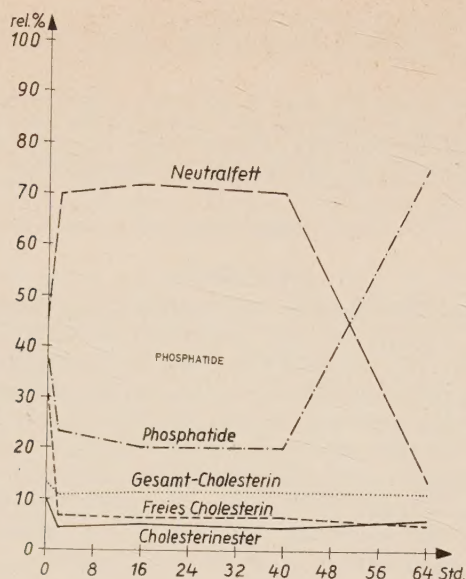


Abb. 1. Graphische Darstellung der einzelnen Fettkomponenten in % des Gesamtfettes vor und 2, 16, 40 sowie 64 Std. nach intravenöser Verabreichung eines Netzmittels im Kaninchenversuch.

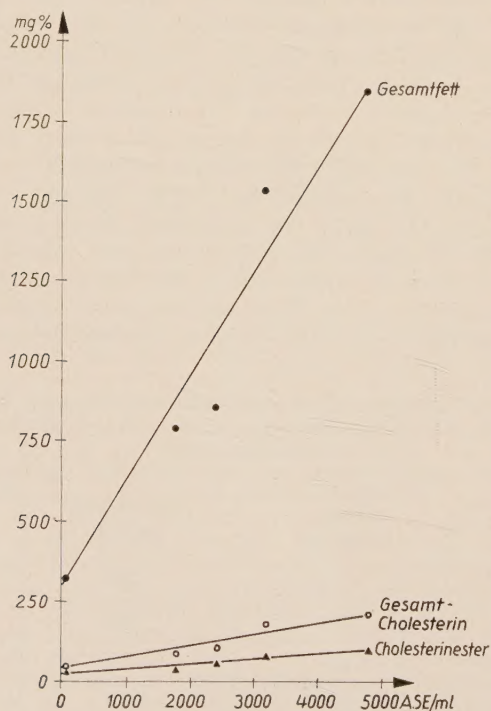


Abb. 2a. Graphische Darstellung der Beziehungen zwischen Antistreptolysin-Titer und Gesamtfett, Gesamt-Cholesterin sowie Cholesterin-Estern nach experimentell erzeugter Hyperlipämie bei Kaninchen.

lesterin und das Ester-Cholesterin, kann aus dem relativen Verhalten zu den anderen Fettkomponenten ein Unterschied gegenüber den in $\text{mg}^0/\%$ ausgedrückten Werten wahrgenommen werden: es kommt bis zum 2-Stundenwert zunächst zu einem Abfall und in der Folgezeit zu einem kaum objektivierbaren Anstieg dieser Lipide. Am wenigsten ändert seine relativen Werte das Gesamt-Cholesterin. Schließlich ergibt sich bei isolierter Betrachtung des freien und des Ester-Cholesterins mit Bezug auf das Gesamt-Cholesterin ebenfalls ein gegensinniges Verhalten insofern, als es nach der Applikation des Netzmittels zu einem Sturz des Ester-Cholesterins kommt und in Relation dazu zu einem verhältnismäßig weniger steilen Anstieg des freien Cholesterins (Abb. 1).

Antistreptolysin-Bestimmung

Die mit angegebener Technik ermittelten Antistreptolysinwerte in dem jeweiligen Serumpool (Durchschnitt) ergaben für die Ausgangswerte von 10 (unbehandelten) Kaninchen 40 ASE/ml, bei dritter Kontrolle 3200 und bei vierter Kontrolle 2400 ASE/ml, d. h. es kam zu einem deutlichen Anstieg der Antistreptolysin-Einheiten mit einem Maximum bei zweiter Kontrolle und zu einem spontanen Rückgang bei dritter und weiter auch bei vierter Kontrolle. Dieses Verhalten des Antistreptolysin-Titers geht prinzipiell parallel zum Verhalten des Gesamtfettspiegels (Tab. 1, Abb. 2a).

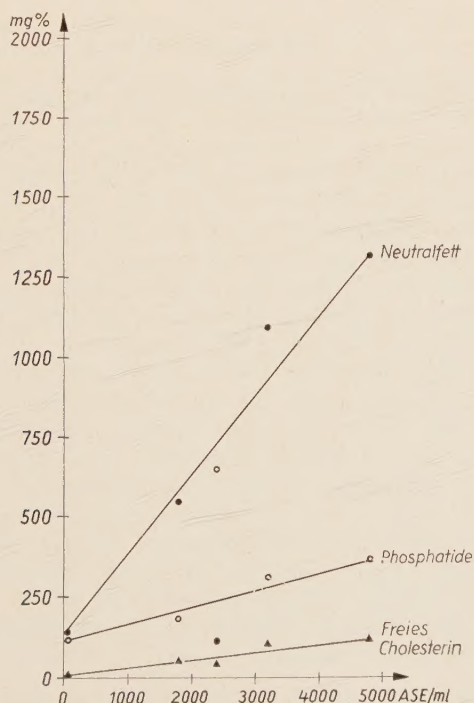


Abb. 2b. Graphische Darstellung der Beziehungen zwischen Antistreptolysin-Titer und Neutralfett, Phosphatiden sowie freiem Cholesterin nach experimentell erzeugter Hyperlipämie bei Kaninchen.

Es ergibt sich unter Berücksichtigung der einzelnen Lipidwerte eine nahezu lineare Korrelation. Besonders eindrucksvoll erscheint die Abhängigkeit der Höhe des Antistreptolysin-Titers von der Konzentration von Serumlipiden für die Cholesterine.

Für die Phosphatide und das Neutralfett ergibt sich in der vorliegenden Versuchsanordnung eine größere Streuung (Abb. 2b).

Antistreptokinase-Bestimmung

Die Bestimmung der Antistreptokinase ergab für den Serumpool der 10 Ausgangsseren einen Wert von 300 CHRISTENSEN-Einheiten/ml Serum. Im weiteren Verlauf des Versuches kam es zu einem relativen Absinken der Antistreptokinase-Werte; zumindest lagen die Antistreptokinase-Einheiten bei den verschiedenen Kontrollen jeweils unter dem Ausgangs-Titer (Tab. 1).

Die Befunde *papierelektrophoretischer Serum-Analysen* ergaben für die Relation der Serumproteine unter den vorliegenden Versuchsbedingungen allenfalls eine geringfügige Dysproteinämie mit Anreicherung der α - und β -Globuline. Mit Bezug auf die bekannten Lipoproteide des Kaninchens fand sich eine deutliche Anreicherung der β -Lipoproteide bereits bei erster Kontrolle mit Zunahme der Konzentration bis zu dritter Kontrolle und danach offensichtlichem Rückgang. Bei der Kohlenhydrat-Färbung zeigte sich im Rahmen der zunehmenden Hyperlipämie eine Anreicherung der α -, aber auch der γ -Globuline.

Diskussion

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen kommt es, wie beabsichtigt, zu einer relativ prompt einsetzenden und lange anhaltenden Hyperlipämie, wobei auf Grund der Verlaufsbefunde das Verhalten der einzelnen Serumlipide der bereits früher beschriebenen (5, 10, 11, 12, 18, 22, 24, 28, 36, 39, 40, 41) Verhaltensweise dieser Komponenten entspricht. Es kommt mit anderen Worten nach Applikation eines Netzmittels offenbar auf Grund einer Permeabilitätsstörung der Zellgrenzflächen zu einer Freisetzung zellständiger Lipo- und Glykoproteide und deren Einschwemmung in die Blutbahn (36), wobei zuerst ein Anstieg des Neutral- und Gesamtfettes und erst später eine allmähliche Anreicherung des Cholesterins und der Phosphatide wahrzunehmen ist. Nach erzeugter Hyperlipämie sollte durch die vergleichende, fortlaufende Bestimmung des Antistreptolysin- und Antistreptokinase Gehaltes in den hyperlipämischen Tierseren geprüft werden, ob die für die Antistreptolysin-O-Reaktion bekannten b.f.p. Ergebnisse auch für den Ausfall des Antistreptokinase-Titers von Bedeutung sind. Bekanntlich kommt es bei Stoffwechsel- und Organerkrankungen mit Hyperlipämie, aber auch schon bei alimentärer Hyperlipämie, zu einer unspezifischen Erhöhung des Antistreptolysin-Titers, der in einem bestimmten Bereich mit der Stärke der Hyperlipämie parallel geht (16, 33, 34, 35, 38). In den vorliegenden Ergebnissen konnte im Rahmen der Verlaufsbestimmungen diese Beobachtungstatsache erneut bestätigt werden.

Bei den Bemühungen, exakte Beziehungen zwischen dem Verhalten des unspezifisch erhöhten Antistreptolysin-O-Titers und der Hyperlipämie aufzuzeigen (33, 34, 35, 38), wurden verschiedene Möglichkeiten diskutiert.

so z. B. die Beziehung zwischen den phosphatidhaltigen Lipoproteiden des β -Bereiches oder zwischen der antikörpertragenden γ -Globulinfraction und dem Antistreptolysin-Titer, aber auch Zusammenhänge zwischen Gesamteiweiß, Serumeiweißfraktionen, Serumcholesterin sowie der Relation Phosphatide zum Cholesterin und dem Antistreptolysin-Titer. Keine dieser Relationen konnte jedoch signifikant als alleinige Ursache für den b.f.p. Ausfall der Antistreptolysin-O-Reaktion gesichert werden. Am ehesten erhellt den Tatbestand die Hypothese einer Hemmwirkung der Cholesterine und Phosphatide auf das Streptolysin, wobei bei Vornahme der Antistreptolysin-Reaktion in Seren mit vermehrtem Cholesterin- und Phosphatidgehalt das zugefügte Streptolysin infolge einer unspezifischen Konglomerierung durch die erwähnten Lipide nicht wirksam wird, d. h. keine Haemolyse der Indikator-Erythrozyten bewirkt. Diese Vorstellung kann auch auf Grund der hier vorliegenden Ergebnisse weitgehend unterstrichen werden: zwischen dem Verhalten des Cholesterinspiegels und dem Anstieg des Antistreptolysin-Titers lassen sich Parallelen bzw. eine lineare Abhängigkeit aufweisen.

PETERSEN u. Mitarb. (29, 30) haben in jüngster Zeit mit sehr präzisen Untersuchungen den Wirkungsmechanismus der Streptolysin-O-Inhibitoren aufgeklärt. Es zeigte sich im Verlaufe der umfangreichen Versuche, daß die unspezifische Streptolysin-Inhibition auf einer kombinierten Wirkung von Cholesterin und Phosphatiden beruht und daß die Phosphatide – je nach Mischungsverhältnis – die Wirksamkeit des Cholesterins ganz erheblich (bis zum Tausendfachen des Ausgangswertes) steigern können.

In einem eigenen früheren Untersuchungsgut – allerdings handelt es sich um eine klinische Statistik – wurde diese Frage bereits geprüft (38). Es konnte dort zwar kein statistisch gesicherter Zusammenhang aufgezeichnet werden, jedoch ergaben sich Anhaltspunkte für eine Korrelation dieser Faktoren.

Für die biologisch falsch positive Antistreptolysin-Reaktion spricht der enorm hohe Ausfall des Titers mit Titerstufen ab 4800. Erfahrungsgemäß bewegen sich die auf dem Boden einer Infektion mit β -hämolytischen Streptokokken der Gruppe A erhobenen pathologischen Titer in einem Bereich von 600, 800, 1000 ASE/ml Serum (24, 37, 38). Demgegenüber ließen die Verlaufsuntersuchungen des Antistreptokinase-Gehaltes im Vergleich zum Ausgangswert vor der gesetzten Hyperlipämie keine nennenswerten Abweichungen erkennen. Der beobachtete, geringfügige Rückgang der Titerhöhe ist unseres Erachtens nicht zu werten. Diese hier im Experiment einwandfrei erwiesenen Beobachtungstatsachen entsprechen übereinstimmenden Ergebnissen aus der klinischen Serologie (3, 16). Die Diskrepanz zwischen den beiden Methoden zum Nachweis eines Streptokokken-Antikörpers liegt wohl in der unterschiedlichen Eigentümlichkeit des jeweiligen Antikörpers begründet. Im einen Fall handelt es sich eben um einen hämolysierenden antigenen Faktor der Streptokokken, der, wie oben angeführt wurde, als Antigen dem Patientenserum zugegeben werden muß, im anderen Falle stellt die Streptokinase bzw. das gesamte fibrinolytische System einen relativ stabilen Komplex dar, der offenbar durch Lipidfaktoren nicht beeinflusst wird.

Da im Gefolge von Streptokokkeninfektionen mehrere verschiedene Faktoren antigen voll wirksam sind und infolgedessen eine spezifische Anti-

körperbildung induzieren, stehen für den serologischen Nachweis solcher Antikörper mehrere Indikatoren zur Verfügung. Während bisher die Antistreptolysin-Reaktion als die wohl empfindlichste Nachweismethode für Antikörper der β -hämolytischen Streptokokken der Gruppe A galt (6, 7, 24, 31, 37) und nach unserer Meinung auch trotz der erwähnten Beeinflussbarkeit durch Lipide in ihrem Wert keinesfalls geschmälert werden sollte, ergibt sich aus der dargelegten Feststellung die Konsequenz der Einführung der Antistreptokinase-Reaktion als unerläßliche, zusätzliche Methode bei infektsverdächtigen Patienten mit hohen Lipidwerten, sofern man nicht beim Ansatz der Antistreptolysin-Reaktion generell mit der Dextransulfatmethode nach BURSTEIN und SAMAILLE (4) zur Entfernung der unspezifischen Streptolysin-Inhibitoren arbeitet.

Ohne auf die Methode im einzelnen eingehen zu wollen – hierüber soll an anderer Stelle berichtet werden – darf in Übereinstimmung mit anderen Autoren (2, 16) mit Nachdruck darauf hingewiesen werden, daß es sich bei der Antistreptokinase-Reaktion um eine einfache, routinemäßig vorzunehmende Methode handelt, die in jedem klinischen Labor ohne besonderen apparativen Aufwand eingeführt werden kann. Geringfügige Abwandlungen im Untersuchungsgang, so z. B. die Verwendung von Plasma oder die Verwendung von Serum mit Zusatz von Fibrinogen u. a. m., sind unseres Erachtens nicht als grundsätzliche Unterschiede in der Methodik zu werten. Zu berücksichtigen ist in allen Fällen lediglich die Tatsache, daß Fibrinogen in der biologischen Flüssigkeit überhaupt in ausreichender Menge vorhanden ist. Ansonsten bedient man sich des Fibrinogenzusatzes.

Für die klinische Praxis ergibt sich zur Folge der dargelegten Ergebnisse unter gleichzeitiger Berücksichtigung der einschlägigen Literatur im Falle einer Infektion mit β -hämolytischen Streptokokken der Gruppe A die Notwendigkeit der Bestimmung des Serumlipid-Gehaltes im nüchtern abgenommenen Blut; in Abhängigkeit davon sollte dann entweder nur die Antistreptolysin-Reaktion oder – bei Hyperlipämie – unbedingt zusätzlich oder ausschließlich, die Antistreptokinase-Bestimmung durchgeführt werden.

Auf die Bestimmung des Serumlipid-Gehaltes wird man allerdings verzichten können, wenn man vor Ansatz der Antistreptolysin-Reaktion aus dem Serum die β -Lipoproteide nach BURSTEIN und SAMAILLE (4) mit Dextransulfat und Calciumchlorid ausfällt.

Zusammenfassung

Ausgehend von der Erfahrungstatsache, daß bei erhöhtem Blutfettspiegel unspezifisch hohe Antistreptolysin-Titer nachweisbar sind, wurden nach Erzeugung einer Hyperlipämie im Tierversuch nähere Untersuchungen durchgeführt, ob der Antistreptokinase-Titer von der Hyperlipämie unbeeinflusst bleibt oder ob er mit dem Anstieg der Serumlipide zunimmt. Dabei konnten folgende Ergebnisse festgestellt werden:

1. Die i. v. Gabe eines Netzmittels bewirkte eine sofort einsetzende Hyperlipämie, die nach Erreichen eines Höchstwertes langsam und kontinuierlich wieder zurückging.

2. Mit zunehmendem Blutfettspiegel war eine enorme Erhöhung des Antistreptolysin-Gehaltes zu verzeichnen, deren Ursache wohl die Hemmwirkung der Cholesterine und Phosphatide auf das Streptolysin sein dürfte. Diese Tatsache ließ erkennen, daß der Antistreptolysin-Reaktion, obwohl ihre Bedeutung nicht zu be-

streiten ist, doch gewisse Grenzen gesetzt werden müssen und daß z. B. die exakte Beurteilung einer Streptokokkeninfektion nur im Zusammenhang mit der Bestimmung des Fettstatus bzw. des Antistreptokinase-Titers erfolgen kann.

Eine gleichzeitige Testung mehrerer streptokokkenspezifischer Antikörper wäre auch schon deswegen wünschenswert und gerechtfertigt, weil die Bildungsfähigkeit von Streptolysin und Streptokinase durch einzelne Streptokokkenstämme oft nicht gleichsinnig ausgeprägt ist und weil die Antikörperbildungsbereitschaft des infizierten Individuums gegen die einzelnen Bakterienfermente nicht in jedem Falle parallel verläuft.

3. Die Antistreptokinase-Reaktion erwies sich als die spezifischere, wenn auch etwas weniger empfindliche Methode, da sie gegenüber b.f.p. Ausfällen nicht so anfällig ist. Sie sollte daher stets zur Vervollständigung des serologischen Gesamtbefundes herangezogen werden, zumal ihre Durchführung einfach und ohne großen Aufwand ist.

4. Wird die Antistreptolysin-Reaktion allein durchgeführt, so sollte das nur nach Vorbehandlung mit der Dextransulfatmethode nach BURSTEIN und SAMAILLE zwecks Entfernung der unspezifischen Streptolysin-Inhibitoren geschehen.

Am Beispiel der Resorption von Sulfid aus Schwefelwasser-Schlamm-bädern wird gezeigt, daß die menschliche Haut Resorptions- und Stoffwechselorgan ist. Anwesenheit von Peloiden senken die Resorption. Die Dynamik der Resorption und Oxydation des Schwefels in der Haut, seines Einbaus in Mukopolysaccharide und seiner Ausscheidung im Urin wird an Hand eigener Versuche beschrieben.

Summary

Based on the experience of the antistreptolysin titer being non specifically high in hyperlipemia, it was studied in animal experiment whether the antistreptokinase titer rises with arteficially produced high lipid level or not. The following results were obtained:

1. Intravenous injection of a detergent is promptly followed by hyperlipemia that decreases slowly and continuously after a peak.
2. Increasing hyperlipemia was accompanied by an enormous rise of antistreptolysin which is thought to be caused by the inhibitory effect on streptolysin of cholesterol and phosphatides. This is regarded as evidence of the limited value of antistreptolysin reaction in streptococcal infection unless serum lipid level and antistreptokinase titer are estimated at the same time. A simultaneous testing of several streptococcal antibodies seems desirable in as much as the different streptococci strains do not produce streptolysin and streptokinase equally and production of antibodies against the various bacteria enzymes does not always run contemporaneously in an infected individual.
3. Although not quite as sensitive, the antistreptokinase test proved to be more specific as it is more resistant to inhibitors. Therefore it should be employed as a complementary serological test, the more so since it is a simple method.
4. Antistreptolysin reaction as a single test should always be completed by eliminating non specific streptolysin inhibitors using the dextransulfate method of BURSTEIN and SAMAILLE.

Résumé

Se basant sur des données empiriques, selon lesquelles le titre de l'antistreptolysine non-spécifique dépasse le taux normal lorsque le niveau des lipides dans le sang est augmenté, les auteurs ont procédé à des études expérimentales sur animaux après hyperlipémie provoquée, dans le but d'élucider la question si une telle hyperlipémie influence ou non le taux de l'antistreptokinase. Ils ont pu relever les faits suivants:

Une augmentation progressive du taux des lipides dans le sang cause une surélévation énorme de la teneur en antistreptolysine, probablement due à l'action inhibitrice du cholestérol et des phosphatides sur la streptolysine. Ceci met en évidence le fait que la réaction à l'antistreptolysine, dont l'importance est

indéniable, a néanmoins ses limites; par conséquent, l'appréciation exacte d'une infection streptococcique n'est possible que si parallèlement, une détermination des lipides sanguins, ou bien du titre de l'antistreptokinase est faite.

Des tests simultanés d'un certain nombre d'anticorps streptococciques spécifiques seraient aussi désirables et utiles, parce que la capacité de formation de streptolysine et de streptokinase par les différentes souches de streptocoques est inégale, et d'autre part parce que la disposition à la formation d'anticorps de l'individu infecté peut varier en ce qui concerne leur sensibilité aux ferments bactériens.

Le test de l'antistreptokinase s'est avéré le plus spécifique, bien que sa sensibilité sérologique pour la démonstration d'agents streptococciques soit moindre. On devrait donc l'utiliser pour arrondir l'ensemble des données sérologiques, d'autant plus qu'il est simple et facile.

Si l'on procède uniquement à la détermination du taux de l'antistreptolysine, ceci ne devrait être fait qu'après élimination des inhibiteurs de streptolysine non-spécifiques selon la méthode de BURSTEIN et SAMAILLE.

Literatur

1. ANDERSON, H. C., H. G. KUNKEL und M. McCARTY, J. Clin. Invest. **27**, 425 (1948). – 2. BÖSZÖRMENYI, J., Z. Immunitätsforsch. u. exper. Therap. **124**, 411 (1962). – 3. BÖSZÖRMENYI, J., und P. BARANYAI, Acta Microbiol. **12**, 163 (1965). – 4. BURSTEIN, M. und J. SAMAILLE, Path. et Biol. **6**, 541 (1958). – 5. BYERS, S. O. und M. J. FRIEDMAN, J. Clin. Invest. **35**, 522 (1956). – 6. CHRIST, P., Z. Rheumaforsch. **12**, 141 (1953). – 7. CHRIST, P., Arbeiten aus dem Paul-Ehrlich-Institut **51**, 124 (1954). – 8. CHRISTENSEN, L. R., J. Clin. Invest. **28**, 163 (1959). – 9. DEUTSCH, E. und M. FISCHER, Thromb. Diath. haem. **4**, 482 (1960). – 10. FRANTZ, J. D. jr. und B. T. HINKELMANN, Fed. Proc. **13**, 311 (1954). – 11. FRIEDMAN, B. und S. O. BYERS, J. exper. Med. **97**, 117 (1953). – 12. GERATININ, S. et al., Experientia **12**, 347 (1956). – 13. GRASSMANN, W., K. HANNIG und M. KNEDEL, Dtsch. med. Wschr. **1951**, 333. – 14. GRASSMANN, W. und K. HANNIG, Angew. Chemie **62**, 170 (1950). – 15. HANNIG, K., in: HOPPE-SEYLER/THIERFELDER, 8. Aufl./IV/1 (Berlin – Göttingen – Heidelberg 1960). – 16. HARTL, W., Z. Rheumaforsch. **21**, 152 (1962). – 17. HENNING, N., Klinische Laboratoriumsdiagnostik, 3. Aufl. (München – Berlin 1966). – 18. HIRSCH, R. L. und A. KELLNER, J. exper. Med. **104**, 1 (1956). – 19. KALBAK, K., The State Serum Inst. (Kopenhagen 1942). – 20. KALBAK, K., The State Serum Inst. (Kopenhagen 1947). – 21. KATO, L. und B. Gossy, Amer. Rev. Tbc. **75**, 684 (1957). – 22. KELLNER, A. et al., J. exper. Med. **93**, 373 und 385 (1951). – 23. KÖHLER, W., Die Serologie des Rheumatismus und Streptokokkeninfektionen, 3. Aufl. (Leipzig 1963). – 24. LEGLER, F., Z. Immunitätsforsch. **112**, 99 (1955). – 25. MAYER, M. M., A. G. OSLER, O. G. BIER und M. SCHEIDELBERGER, J. exper. Med. **84**, 535 (1946). – 26. NEWMAN, R. L., J. Clin. Pathol. **18**, 256 (1965). – 27. NIKKILÄ, E. und N. OKER-BLOM, Anm. Med. Exper. Fenn. **30**, 51 (1952). – 28. PATNODE, R. A., P. C. HUDGINS und B. W. JANICKI, J. exper. Med. **107**, 33 (1958). – 29. PETERSEN, K. F., Zbl. Bakter. I Orig. **198**, 267 (1965). – 30. PETERSEN, K. F., P. NOWAK, O. W. THIELE und B. ÜRBASCHEK, Int. Arch. Allergy **29**, 69 (1966). – 31. SCHEIFFARTH, F. und G. BERG, Dtsch. med. Wschr. **1957**, 1960. – 32. SCHEIFFARTH, F., G. BERG und H. GÖTZ, Papierelektrophorese in Klinik und Praxis (München – Berlin 1962). – 33. SCHEIFFARTH, F., G. BERG, F. LEGLER und G. PETERSMANN, Klin. Wschr. **35**, 412 (1957). – 34. SCHEIFFARTH, F., G. BERG, F. LEGLER, E. ROLLER und H. SCHÖN, Klin. Wschr. **37**, 1037 (1959). – 35. SCHEIFFARTH, F., G. BERG, F. LEGLER, E. ROLLER und H. SCHÖN, Klin. Wschr. **39**, 949 (1961). – 36. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ, H. SCHÖN, G. BERG und W. SCHULZE, Z. klin. Chem. **2** (5), 150 (1964). – 37. SCHEIFFARTH, S. und F. LEGLER, Ärztl. Wschr. **1951**, 660. – 38. SCHEIFFARTH, F., F. LEGLER, W. FRENGER und K. TRIPPE, Z. Hygiene **150**, 151 (1964). – 39. SCHÖN, H. und G. BERG, Blut **5**, 297 (1959). – 40. SCHÖN, H. und G. BERG, Arzneimittelforsch. **7**, 307 (1957). – 41. SCHÖN, H., G. BERG und M. GMÄHLICH, Arzneimittelforsch. **8**, 763 (1958). – 42. SCHULTZE, H. E., G. SCHWICK und H. VASTERS, Ärztl. Wschr. **9**, 324 (1954). – 43. TODD, E. W., J. exper. Med. **55**, 267 (1932). – 44. TODD, E. W., J. Path. Bact. **36**, 435 (1933).

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. F. SCHEIFFARTH, Dr. H. GÖTZ und Dr. U. MEINL, Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg, 852 Erlangen, Reg. Med. Dir. Dr. F. LEGLER, Staatliche Bakteriologische Untersuchungsanstalt, 852 Erlangen.

LEBENS LAUF

Am 25. März 1942 wurde ich, Ursula Meinl, als drittes von vier Kindern des praktischen Arztes Dr. med. Arnold Meinl und seiner Ehefrau Dr. med. Gisela Meinl, geb. Koch, in Leskau, Kreis Tepl, geboren.

Nach der Aussiedlung aus dem Sudetenland besuchte ich die Volksschule in Bayerbach bei Ergoldsbach in Niederbayern und anschließend das Humanistische Gymnasium in Landshut bis zur dritten Klasse. Die dritte Klasse absolvierte ich am Humanistischen Gymnasium in Pfarrkirchen. Da mein Vater im September 1955 nach Nürnberg übersiedelte, vollendete ich meine Gymnasialzeit am Humanistischen Neuen Gymnasium in Nürnberg und legte dort im Juni 1961 die Reifeprüfung ab.

Mit dem Studium der Medizin begann ich im Wintersemester 1961/62 an der Universität in Erlangen. Dort unterzog ich mich im März 1963 der naturwissenschaftlichen Vorprüfung und im August 1964 der ärztlichen Vorprüfung. Im Wintersemester 1964/65 studierte ich an der Universität in München und im Sommersemester 1965 an der Universität in Wien. Seit Wintersemester 1965/66 war ich wieder an der Universität Erlangen immatrikuliert. Hier legte ich im Herbst 1967 das Medizinische Staatsexamen ab.

